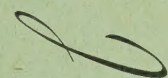


FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1960 — N° 632

LE DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DE L'ASCARIDIOSE



THÈSE

présentée à la

**FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE LYON**

et soutenue publiquement le 16 novembre 1960

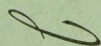
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

par

Khamsay CHOMSISAVAD

né le 15 avril 1929 à Muong-Không, Province de Champasak (Laos)

Ancien Élève de l'École du Service de Santé Militaire



IMPRIMERIE J. LORGE

37, quai Fulchiron, Lyon-5°

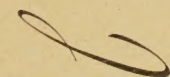
1960

**LE DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE
DE L'ASCARIDIOSE**

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1960 — N° 632

LE DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DE L'ASCARIDIOSE



THÈSE

présentée à la

**FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE LYON**

et soutenue publiquement le 16 novembre 1960

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

par

Khamsay CHOMSAVAD

né le 15 avril 1929 à Muong-Không, Province de Champasak (Laos)

Ancien Élève de l'École du Service de Santé Militaire



IMPRIMERIE J. LORGE
37, quai Fulchiron, Lyon-5°

1960

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen Honoraire	MM. J. LEPINE
Doyen, correspondant de l'Institut.....	H. HERMANN
Assesseur	M. LEVRAT

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. COLLET, GUIART, CADE, PATEL, LEPINE, TRILLAT, MOURIQUAND,
MAZEL, GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE, SANTY.

PROFESSEURS

Physiologie	MM. HERMANN
Clinique Urologique	CIBERT
Physique biologique, radiologie, physiothérapie ...	PONTHUS (déta- ché à Beyrouth)
Clinique neuro-psychiatrique et hygiène mentale ..	DECHAUME
Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire.	ROCHET
Clinique des maladies infectieuses et bactériologie.	X...
Chimie organique et toxicologie	CHAMBON
Clinique chirurgicale B	WERTHEIMER
Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale	X...
Clinique médicale B	P.-RAVAULT
Clinique et prophylaxie cardio-vasculaires	FROMENT
Clinique médicale C	CROIZAT
Chimie biologique et médicale	ENSELME
Clinique chirurgicale A	MALLET-GUY
Clinique chirurgie orthopédique et de chirurgie in- fantile	GUILLEMINET
Pharmacie galénique et matière médicale	REVOL
Clinique gynécologique	POLLOSSON
Clinique obstétricale	PIGEAUD
Médecine du travail	BOURRET
Clinique médicale A	LEVRAT
Hygiène et action sanitaire et sociale	SOHIER
Clinique stomatologique	DUCLOS
Clinique médicale infantile et hygiène du 1 ^{er} âge.	BERNHEIM
Biologie médicale et pharmacodynamie	JOURDAN
Botanique et cryptogamie	NETIEN
Clinique chirurgicale C	BERTRAND
Chimie analytique pharmaceutique	BADINAND
Pharmacie et Pharmacologie	DREVON
Médecine légale et déontologie	ROCHE
Parasitologie et pathologie exotique	COUDERT
Clinique oto-rhino-laryngologique	MOUNIER-KUHN
Clinique ophtalmologique	PAUFIQUE
Clinique dermatologique et syphiligraphique	THIERS
Clinique de pneumo-phthisiologie	BRUN
Clinique traumatologique des membres	CREYSSEL Jean
Cancérologie	DARGENT
Anatomie pathologique	GUICHARD
Pathologie générale et expérimentale	GIRARD Paul
Anatomie	LATARJET
Pathologie chirurgicale	PEYCELON
Thérapeutique	GIRARD Marcel
Pathologie médicale	VACHON
Physio-pathologie des voies respiratoires	GALY
Histologie	KEHL



PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Physique nucléaire appliquée à la médecine	MM. BERGER
Technologie pharmaceutique	DORCHE

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Obstétrique	MM. BANSSILLON
Parasitologie	ROMAN
Bactériologie	BERTOYE
Physiologie	CIER J.-François
Physiologie	CHATONNET

MAITRES DE CONFERENCES — AGREGES

Chimie organique et toxicologie	MM. PERROT Louis
Anatomie pathologique	FEROLDI Jacques
Pharmacie et pharmacologie	CIER André
Chimie biologique et médicale	CREYSSEL Roger
Anatomie	DUROUX Emile
Thérapeutique	BRETTE René
Histologie	DUMONT Louis-P.
Hygiène	THIVOLET Jean
Parasitologie	GARIN Jean-Paul
Physique	MORET Robert
Botanique et cryptogamie	ODDOUX Lucien

AGREGES EN EXERCICE

Neuro-chirurgie	MM. LECUIRE (Chargé d'enseignement)
Cardiologie	GONIN André (Chargé d'enseignement)
Obstétrique	MATHIEU Jacques
Orthopédie	MARION Joseph
Propédeutique médicale	PONT Maurice (Chargé d'enseignement)
Pathologie médicale	VIGNON Georges (Chargé d'enseignement)
Pathologie médicale	REVOL Louis (Chargé d'enseignement)
Pathologie chirurgicale	JAUBERT de BEAUJEU (Chargé d'enseign.)
Médecine générale	TRAEGER Jules (Chargé d'enseignement)
Pathologie chirurgicale	GUILLEMEN Georges (Chargé d'enseignement)
Electro-radiologie	PAPILLON Jean (Chargé d'enseignement)
Obstétrique	BURTHIAULT René (Chargé d'enseignem.)
Pédiatrie, Puériculture	FRANCOIS René (Chargé d'enseignement)
Médecine générale	GUINET Paul
Pathologie chirurgicale	SAUTOT Jean
Chirurgie générale	MARION Pierre
Chirurgie générale	MICHAUD Pierre
Maladies infectieuses	MONNET Paul
O.R.L.	GIGNOUX Marcel
Stomatologie	FREIDEL Charles
Médecine générale	PLAUCHU Marcel
Pathologie médicale	DEVIC Michel (Chargé d'enseignement)
Médecine légale	COLIN Marcel (Chargé d'enseignement)
Neurologie	GUYOTAT Jean (Chargé d'enseignement)
Obstétrique	DUMONT Martial (Chargé d'enseignement)
Urologie	DURAND Louis-Noël (Chargé d'enseignem.)
Chirurgie générale	FRANCILLON Jacques (Chargé d'enseign.)
Médecine générale	DESPIERRES Charles
Chirurgie générale	De MOURGUES Georges
Chirurgie générale	SAUBIER Eugène
Dermatologie	COLOMB Daniel
Médecine du travail	TOLOT François
Neurologie, Psychiatrie	SCHOTT Bernard
Ophthalmologie	BONAMOUR Georges

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. COUDERT J.
BERTOYE A.
GARIN J.-P.
THIVOLET J.

A LA MEMOIRE DE MES PARENTS

A MON FRERE

Je lui dois tout.

Qu'il trouve ici un faible témoignage de mon affection et de ma reconnaissance pour les lourds sacrifices que lui a imposés mon éducation.

A MA FEMME

A MES ENFANTS :

PHAYSONE

ANOÇAY

SAÏDARY

A TOUS LES MIENS

A TOUS MES AMIS

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. COUDERT

*Professeur de Parasitologie à la Faculté Mixte de Médecine
et de Pharmacie de Lyon*

Il a bien voulu nous inspirer ce travail et nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre gratitude et l'assurance de notre profond respect.

A NOS JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. BERTOYE

*Professeur de Bactériologie à la Faculté Mixte de Médecine
et de Pharmacie de Lyon*

Nous le remercions de l'honneur
qu'il nous a fait en siégeant à notre
jury.

Qu'il veuille bien trouver ici le
témoignage de notre reconnaissance
et de notre respectueux attachement.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ J.-P. GARIN

*Professeur de Parasitologie à la Faculté Mixte de Médecine
et de Pharmacie de Lyon*

Il a accepté de faire partie de notre
jury. Nous lui exprimons notre gra-
titude et nos remerciements.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ J. THIVOLET

*Professeur Agrégé d'Hygiène à la Faculté Mixte de Médecine
et de Pharmacie de Lyon*

Nous le remercions d'avoir bien
voulu accepter de faire partie de
notre jury.

A MONSIEUR LE MÉDECIN-GÉNÉRAL GIRAUD

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce

Chirurgien des Hôpitaux Militaires

*Ancien Directeur de l'Ecole du Service de Santé Militaire
et de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes*

A MONSIEUR LE MÉDECIN-COLONEL BORON

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce

*Directeur de l'Ecole du Service de Santé Militaire
et de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes*

A MONSIEUR LE MÉDECIN-COLONEL PROTAR

Spécialiste des Hôpitaux Militaires

Médecin-Chef de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes

A MONSIEUR LE MÉDECIN-LIEUTENANT-COLONEL BORREL

Electro-Radiologiste des Hôpitaux Militaires de l'Armée

*Chef de Service d'Electro-Radiologie
de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes*

A NOS MAÎTRES
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE LYON
DES HÔPITAUX CIVILS DE LYON
ET DE L'HÔPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION DESGENETTES

AUX AUTORITÉS
DE L'ECOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE DE LYON

A TOUS MES AMIS ET CAMARADES
DE L'ECOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE DE LYON

A NOS ANCIENS MAÎTRES
DE L'ÉCOLE ROYALE DE MÉDECINE KHMÈRE
ET DE L'HÔPITAL PRAKET MÉLÉA DE PHNOM-PENH

A TOUS

Ceux qui, au Laboratoire de Parasitologie de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon, nous ont apporté leur précieuse aide à la réalisation de cette thèse : notre ami le Docteur Yves Gibert, qui nous a mis au courant des différentes techniques sérologiques.

INTRODUCTION

Jusqu'à ces dernières années, le diagnostic de l'Ascari-diose était évoqué uniquement par la constatation des manifestations cliniques, retenu par l'éosinophilie sanguine et confirmé par la découverte des œufs d'*Ascaris* dans les selles, ou par la constatation d'une élimination spontanée du parasite adulte dans les matières fécales.

Mais, malheureusement, le fait n'est pas toujours aussi simple. Les manifestations cliniques sont très variées et souvent atypiques. De plus, il existe bien des cas où les examens coprologiques pratiqués à plusieurs reprises et échelonnés sur un certain nombre de mois ne révèlent ni œufs ni parasites et que, cependant, l'étiologie ascari-dienne paraît certaine. Ainsi, le cas où il s'agit d'*Ascaris* de l'animal, égarés chez l'homme dont le cycle incomplet, ne comportent pas de l'élimination des œufs dans les selles; ou bien il s'agit de vraie lumbricose, mais à sa période d'invasion qui se traduit, parfois, par un syndrome d'infiltrat pulmonaire; ou bien encore, il s'agit de l'*Ascaris* de l'espèce humaine dont le cycle est altéré par l'état de prémunition de son hôte à la suite d'une infestation antérieure.

Cependant, le problème peut être encore résolu. Grâce aux progrès de l'immunologie parasitaire et à la mise au point de certaines techniques sérologiques en matière de parasitologie, le diagnostic de l'Ascari-diose dans ses différentes manifestations cliniques peut se faire avec certitude en s'adressant, soit directement à la réaction anaphylactique ou allergique de l'individu lui-même, soit, indi-

rectement, en mettant en évidence la présence d'anticorps dans le sang circulant.

Nous concevons donc tout l'intérêt d'une étude approfondie du problème de l'immunologie parasitaire. C'est ainsi que le Professeur J. COUDERT, l'un des auteurs de ces recherches, nous a proposé, au début de l'année 1959, d'appliquer les différentes techniques sérologiques au diagnostic de l'Ascariidiose.

Dans cette thèse, nous nous proposons d'indiquer d'abord succinctement ce qu'est l'Ascariidiose, le cycle du parasite, l'anaphylaxie ou l'allergie que peut déterminer la présence de l'*Ascaris* chez l'homme, les différentes manifestations cliniques et enfin les différentes techniques sérologiques et leur valeur diagnostique.

Nous étudierons donc successivement les espoirs que nous fondons sur :

- L'Intradermo-réaction à l'extrait d'*Ascaris* ;
- La Réaction d'Agglutination de particules de Collo-dion ou Test de Cavelti ;
- La Réaction d'Agglutination de particules de Bentonite ou Test de Bozicevich ;
- La Réaction de Diffusion en Milieu Gélifié ou Test d'Ouchterlony.

Et enfin, pour être complet, nous signalerons l'Immuno-électrophorèse et la Réaction de l'Hémagglutination.

HISTORIQUE

L'*Ascaris* était connu depuis l'antiquité. HIPPOCRATE, PLINE, GELSE ont noté l'existence de ce parasite, sous des dénominations diverses.

« Le *Lumbric*, écrit DAVAINE, est l'un des trois vers de l'homme connu des anciens, et le seul sur l'existence duquel il n'y a jamais eu d'obscurité. »

C'est LINNE, en 1758, qui proposa l'appellation « *Ascaris Lumbricoïdes* ».

Mais on ne connaissait pas encore le rôle pathogène de ces vers. Ce n'est que vers le milieu du XIX^e siècle, que l'intérêt se réveille avec les travaux de F.V. RASPAIL ; à partir de 1838, celui-ci avait attiré l'attention sur les troubles morbides dûs aux helminthes. DAVAINE en 1859 fait apparaître son « *Traité des Entozoaires* ».

Survient en 1857 PASTEUR qui ouvre l'ère bactérienne.

Tout est alors remis en question, et la Parasitologie retombe dans l'oubli. Les accidents que l'on commençait à lui attribuer, on les rattachera à des germes microbiens.

Mais la réaction ne tardera pas, et l'étude des parasites va rattraper le temps perdu. Dès 1899, GUIART met en évidence les lésions dues à l'*Ascaris*, que contrôlent LEROUX et WEINBERG.

En 1901, METCHNIKOFF et GUIART accusent l'helminthiase de favoriser les septicémies, et en particulier la fièvre typhoïde. JERIMICI en 1908 confirme par le fait clinique cette opinion.

De 1879 à nos jours, BOZZOLO, SCHAPIRO, FLEURY, BRIDA..., jusqu'à SIMONIN, RANSON, REES, MACHEBEUF, étudient la question des toxines.

1902, Ch. RICHET découvre l'anaphylaxie que, dès 1907, CHAUFFARD introduit à l'étude des vers, avec BODIN et LAROCHE. D'autres auteurs réalisent l'anaphylaxie vermineuse passive, GULDINI, WEINBERG et PARVU en 1908, SIMONIN en 1920 se livrent à l'étude de l'accoutumance et des anticorps.

WEINBERG et SEGUIN font en 1913 les premières recherches sur l'éosinophilie.

Enfin, la biologie des *Ascaris*, jusque-là mystérieuse, est éclairée d'un jour nouveau par les travaux de STEWART (1916), RANSON et FORSTER (1917), FULLEBORN, KOINO (1923), YAMAGUCHI (1925), qui décrivent l'évolution de l'*Ascaris* dans l'organisme humain, montrant qu'il vit chez l'homme à la fois à l'état larvaire et à l'état adulte, sans hôte intermédiaire.

Et c'est depuis ces dernières années seulement qu'on introduit, dans le diagnostic de l'Ascaridiose, les méthodes immunologiques consistant à mettre en évidence les anticorps et à faire les tests allergiques cutanés. Nous citerons à propos de chaque réaction immunologique des travaux concernant ces études.

CHAPITRE PREMIER

GENERALITES

L'Ascaridiose comprend l'ensemble des troubles morbides causés par la présence des *Ascaris*. L'*Ascaris* humain est l'*Ascaris Lumbricoïdes*. Actuellement d'autres espèces voisines, parasitant le chien ou le chat par exemple, peuvent se rencontrer accidentellement chez l'homme.

A. — Cycle de l'*Ascaris* (Rappel)

1° L'*Ascaris Lumbricoïdes* appartient à l'Ordre des Nématodes, de la Classe des Némathelminthes. Une femelle peut pondre, annuellement, 60 millions d'œufs (ESCHRICHT) qui s'éliminent avec les matières fécales. Le développement de l'embryon s'accomplit en dehors de l'organisme. Il exige un milieu humide et demande un long espace de temps. Il ne peut donc y avoir d'auto-infestation directe. Au moment de l'émission des matières fécales, les œufs ne renferment qu'une seule cellule : en 30 ou 40 jours, en été, et quelques mois quand la température diminue, l'embryon se développe, le milieu extérieur étant l'eau ou la terre humide. Une fois embryonné, l'œuf peut vivre longtemps dans le milieu extérieur ; il résiste à la gelée et à des températures de +42 degrés C.

Cet œuf embryonné représente la forme infestante. Parvenu dans l'intestin de l'hôte, il libère son embryon. La larve se fraye un chemin à travers la paroi intestinale, gagne les vaisseaux et se laisse entraîner par le torrent circulatoire. Elle peut aussi, à travers les tissus, gagner le foie où elle s'arrête pendant trois à quatre jours. Par

la voie veineuse sus-hépatique, elle se répand dans le parenchyme pulmonaire, elle gagne les bronches, par effraction, et les voies respiratoires. Le passage des larves n'est pas inoffensif pour l'hôte. On a constaté, dans les infestations expérimentales, une pneumonie mortelle avec hépatisation rouge. Vers le huitième jour les larves abandonnent le poumon et remontent par la trachée jusqu'au pharynx, passent dans l'œsophage et finalement retournent à l'intestin où elles se transforment en adultes.

2° Les *Ascaris* du chat et du chien (*Toxocara felis* et *Toxocara canis*) ont une évolution abortive quand ils pénètrent dans un organisme humain. Ces *Ascaris* d'origine animale ont, chez l'homme, le même transit hépatique et pulmonaire que l'*Ascaris Lumbricoïdes* ; mais ils ne deviennent jamais adultes. Ils peuvent déterminer donc des syndromes viscéraux divers : syndrome de Lœffler incomplet avec éosinophilie et hépatomégalie. Cependant, même dans le cas d'une infestation de l'homme par les *Ascaris Lumbricoïdes*, on a observé des cycles vermineux incomplets, cycles ne comportant pas l'apparition des œufs dans les selles. Il faut se demander, dans le cas de syndrome de Lœffler ascaridien incomplet, s'il s'agit d'une infestation d'origine animale ou d'une Ascaridiose humaine à évolution écourtée. Hélas ! rien ne peut l'affirmer ; les moyens de diagnostic immunologique ne peuvent donner actuellement que la nature ascaridienne, le groupe et non l'espèce.

B. — Notion de l'allergie et de l'anaphylaxie

Il est actuellement admis que tout organisme humain ou animal parasité par les helminthes réagit, entre autre, contre ceux-ci ou contre les produits qu'ils élaborent et qu'ils sécrètent par divers mécanismes immunologiques. Cela découle de la propriété que possède l'organisme hôte de fabriquer des anticorps contre les constituants antigéniques de ces vers parasites, comme contre toute substance qui lui est étrangère (R. PAUTRIZEL et J. BAILLENGER).

Mais cette immunité acquise n'est pas très spectaculaire, les techniques prophylactiques ayant recours à la vaccination et à la sérothérapie spécifique n'ont pas mon-

tré, jusqu'à présent, une efficacité appréciable. Au contraire, les anticorps qui imprègnent l'organisme et surtout ceux qui sont fixés aux tissus, peuvent en se combinant avec les antigènes, provoquer des manifestations pathologiques les plus diverses : *accidents allergique et anaphylactique*. Ce qui fait qu'en pratique, la présence de quelques petits vers dans l'organisme humain peut s'accompagner de manifestations biologiques et cliniques dont la diversité et la sévérité empêchent parfois le clinicien de penser à leur véritable cause : manifestations nerveuses, cutanées, digestives, respiratoires...

La connaissance de ces accidents anaphylactiques n'est pas nouvelle. Déjà en 1911, Ugo MELLO démontre expérimentalement les propriétés sensibilisantes des *Ascaris*. Trois ans plus tard, dès 1914, RACHMANOW rapporte à l'anaphylaxie les symptômes méningés que présentent certains porteurs de vers intestinaux. Puis, en 1926, L. MORENAS crée des chocs anaphylactiques chez les cobayes en utilisant des extraits d'*Ascaris* après les avoir sensibilisés par ce même antigène. Ses expériences qui ont porté sur 15 cobayes et 2 lapins, ont été classées d'après les voies utilisées pour la sensibilisation et le déclenchement du choc anaphylactique.

1° *Sensibilisation sous-cutanée* et injection déchaînante intra-cranienne :

Chez les 6 cobayes en expérience, l'injection déchaînante provoque des signes de grande anaphylaxie : hoquet, prurit du museau au bout d'une minute, hérissement, chute, crises épileptiformes apparaissant de la 5^e à la 10^e minute et se produisant pendant une heure ou deux ; 5 cobayes meurent dans les 3 jours ; le 6^e survit ; 2 témoins ont de légers troubles et survivent.

2° *Sensibilisation intra-péritonéale* : injection déchaînante intra-cranienne : prurit, secousses, hérissement, survie.

3° *Sensibilisation intra-cranienne* : injection déchaînante sous-cutanée : simplement un prurit généralisé.

4° *Sensibilisation et injection déchaînante sous-cutanées* : réalisation d'un phénomène d'Arthus typique

chez un lapin : une biopsie montre une abondante éosinophilie locale dans les capillaires et les couches profondes du derme.

5° *Sensibilisation sous-cutanée, injection déchaînante intra-cardiaque* chez le lapin : convulsions très-violentes; mort à la 7^e minute. Autopsie : congestion intense des viscères.

La sensibilisation peut se faire par voie digestive en soumettant les animaux à une alimentation renfermant une petite quantité d'extrait vermineux dans la bile. Le choc anaphylactique déclenché est aussi net, mais moins accusé qu'avec la sensibilisation par voie cutanée.

On peut donc conclure que ces manifestations sont sous la dépendance de la production, par l'organisme hôte, d'anticorps antihelminthiques, qui, en l'imprégnant, crée l'état de sensibilisation. Cet anticorps n'a pas besoin d'être intense pour que cet état se produise et d'autre part, de très faibles quantités d'antigènes suffisent à provoquer le déclenchement des manifestations allergiques. L'extrême sensibilité des réactions allergiques a pu donc être démontrée en introduisant, comme le montre l'expérience de MORENAS, par voies diverses, de petites quantités d'antigènes helminthiques dans l'organisme sensibilisé et en produisant les différentes manifestations allergiques. C'est par des procédés identiques que l'on provoque des réactions allergiques limitées (l'intradermo-réaction) pour diagnostiquer, par une technique immunologique, un grand nombre des helminthiases.

C. — Les manifestations cliniques (Rappel)

La symptomatologie de l'Ascariidiose est marquée par un extrême polymorphisme. Elle va de la latence totale aux syndromes les plus complexes et les plus sévères. Cette variabilité des traductions cliniques dépend en partie du nombre du parasite, de l'espèce (humaine ou animale), du terrain de l'hôte et surtout des combinaisons des multiples actions pathogènes qu'exercent les *Ascaris* sur l'organisme humain : Action spoliatrice, action allergique ou anaphylactique, action traumatique et infectieuse,

action mécanique, enfin, action irritative et inflammatoire.

On comprend donc que, du fait de la complexité pathogénique, l'Ascaridiose ne comporte pas un tableau symptomatique pathognomonique, mais se traduit par divers troubles morbides qu'il convient d'envisager séparément :

1° *Les manifestations digestives* sont les plus fréquentes :

— Soit manifestations souvent sans gravité réelle et peu caractéristiques : inappétence, vomissement, diarrhée, douleurs abdominales.

— Soit manifestations plus sérieuses avec diarrhée muco-séreuse parfois sanglante accompagnée de douleurs abdominales, de vomissements, plus rarement d'un syndrome cholériforme.

— L'occlusion ascaridienne est classique ; classique aussi le diagnostic per-opératoire qui montre un segment d'iléon obstrué par des paquets d'*Ascaris*.

— Ces parasites sont également à l'origine d'autres accidents chirurgicaux tels que : syndromes appendiculaires, invaginations intestinales, étranglements herniaires, perforations intestinales...

2° *Complications hépato-biliaires* : Chez l'enfant, l'*Ascaris* en s'engageant dans le cholédoque peut entraîner des ictères, des angio-cholites, des cholécystites, des abcès du foie..., formes hépato-biliaires bien connues des pédiatres parce que graves et mortelles.

3° *Troubles généraux et manifestations fébriles* : L'infection ascaridienne peut s'accompagner de syndrome fébrile fugace ou de manifestations fébriles du type septicémique avec état général alarmant. Les troubles de la nutrition peuvent réaliser en particulier chez l'enfant une véritable cachexie dont on cherche vainement l'origine dans une affection viscérale sévère ou une suppuration profonde.

4° *Syndromes méningés et crises convulsives* : Sont aussi fréquents chez l'enfant et chez les adultes présentant des tares nerveuses. Le syndrome méningé, par la céphalée, les vomissements, la torpeur, la raideur de la nuque et le signe de Kernig, simule la méningite tuberculeuse. Ce

diagnostic est éliminé par la ponction lombaire qui donne un liquide souvent hypertendu mais de composition normale ou avec éosinophilie.

Des crises convulsives, des états de mal, des phénomènes paralytiques ont été décrits.

5° *Manifestations pulmonaires* : Sont très fréquentes, mieux connues et mieux rétablies. Il s'agit soit d'une toux quinteuse isolée, soit d'infiltrats pulmonaires fugaces éosinophiliques avec une traduction clinique variable, en général peu bruyante et souvent latente. La localisation pleurale, elle aussi, n'est pas exceptionnelle : il s'agit habituellement d'un épanchement minime, « micro-pleurésie » de Turiaf, occupant un cul-de-sac ou une scissure. On peut dans certains cas observer des épanchements de la grande cavité, fugaces.

6° *Manifestations allergiques* : LÆFFLER insiste sur le fait que bon nombre des malades sont des sujets allergiques atteints d'urticaire, d'eczéma, de migraine, d'asthme, d'œdème de Quinke.

7° *Atteinte des autres viscères* : Le foie, le système lymphatique, la prostate, l'épididyme peuvent également être atteints.

Devant cette symptomatologie si variée, il est parfois très difficile d'évoquer l'étiologie ascaridienne. La formule sanguine qu'on demande presque systématiquement pourra cependant montrer une éosinophilie et mènera le clinicien à pratiquer des investigations nécessaires en vue d'aboutir à un diagnostic exact.

CHAPITRE II

DIFFERENTES METHODES DU DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DE L'ASCARIDIOSE

A. — L'INTRADERMO-REACTION A L'ANTIGENE ASCARIDIEN

Technique

Antigène : Pour l'intradermo-réaction, comme pour toutes réactions immunologiques, on a l'avantage à employer l'antigène ascaridien lyophilisé fabriqué selon la technique décrite par J. COUDERT en raison de sa commodité, de sa stabilité et de sa bonne conservation. L'antigène liquide préparé au laboratoire même peut être aussi utilisé.

La technique de l'intradermo-réaction elle-même est simple.

1° On injecte au niveau de la face antérieure de l'avant-bras par voie intradermique un dixième de centimètre cube de produit préparé extemporanément avant l'usage (on projette un centimètre cube d'eau bi-distillée stérile dans une ampoule contenant l'antigène lyophilisé). Puis à l'autre bras, on injecte avec une autre seringue à intradermo-réaction, un dixième de centimètre cube de solution témoin (sérum physiologique ou antigène différent).

Les seringues destinées à l'injection de l'antigène ascaridien doivent être strictement réservées à cet usage et ne doivent pas être employées pour d'autres antigènes.

2° *La lecture* du test se fait pendant les vingt à quarante premières minutes, puis après vingt-quatre heures :

a) La lecture précoce : seules, peuvent être valables, les réactions urticariennes immédiates évoluant en moins

de quarante minutes et d'un diamètre de plus de dix centimètres. Cependant, H. BOUCHER, J. COUDERT, G. BONNEFOY, en pratiquant ce test cutané chez les anciens ascaridiens guéris, observèrent une réaction cutanée, dans les quarante premières minutes d'un diamètre inférieur à cinq centimètres. Ils conclurent que toute réaction précoce d'un diamètre supérieur à cinq centimètres, obtenue avec un antigène convenablement titré, mérite d'être retenue comme témoin d'un parasitisme actuellement en évolution.

b) La lecture tardive est rarement intéressante, cependant on peut observer chez certains malades une réaction phlegmoneuse et prurigineuse retardée tout à fait objective.

Les réactions locales très violentes sont possibles et très rapidement influencées par les antihistaminiques de synthèse (BONNEFOY).

Dans la pratique de cette intradermo-réaction les accidents sont rares et d'ailleurs bénins. On peut observer, chez les sujets très allergiques, une réaction générale qu'on peut très bien, là aussi, maîtriser par l'administration d'antihistaminique de synthèse.

Statistiques

1° H. BOUCHER, J. COUDERT et leurs collaborateurs publient les observations suivantes :

Au cours d'une séance de radioscopie pulmonaire systématique effectuée le 28 novembre 1952 dans une base d'aviation de la région lyonnaise, dix-sept cas d'infiltrat pulmonaire furent découverts.

Parmi les dix-sept sujets reconnus suspects, huit furent aussitôt admis à l'hôpital et neuf suivis à titre externe, les examens pratiqués étant, dans tous les cas, très complets (examen radiologique, hématologique, bactériologique, coprologique...).

L'un des huit malades hospitalisés fut reconnu atteint d'une tuberculose pulmonaire, et un autre de bronchopneumopathie virale (P.A.P. type Reiman). Chez les six autres malades, la disparition des infiltrats en dix jours et la présence d'une éosinophilie sanguine évidente (entre 10 et 30 %) orientèrent vers le diagnostic de syndrome

de Lœffler. On pratiqua alors une intradermo-réaction avec antigène ascaridien qui fut fortement positive chez tous les six malades. Mais un seul d'entre eux devait éliminer par la suite des œufs d'*Ascaris* (cinquante-neuvième jour).

Dans le deuxième groupe (neuf sujets suivis à titre externe), dès le troisième jour après le dépistage systématique, les images radiologiques anormales avaient disparu et il n'existait ni signes généraux, ni signes fonctionnels. Chez trois sujets, l'intradermo-réaction avec l'antigène ascaridien était négative et il n'y avait pas d'éosinophilie sanguine (taux de 3 à 5 %).

Les auteurs avaient admis, après discussion, qu'ils s'étaient trouvés en présence d'une petite épidémie de syndrome de Lœffler ascaridien comportant quinze cas dont douze avaient une intradermo-réaction positive à l'antigène ascaridien.

2° Récemment, à l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes, BONNEFOY recueille des observations semblables.

a) Chez trois malades atteints de syndrome de Lœffler d'origine ascaridienne à cycle vermineux complet, c'est-à-dire comportant l'élimination des œufs ou du parasite dans les selles, l'intradermo-réaction est fortement positive.

b) Chez 9 cas de syndrome de Lœffler ascaridien incomplet, l'intradermo-réaction à l'antigène ascaridien seule permet de confirmer le diagnostic.

c) Chez 8 autres cas de syndrome de Lœffler incomplet douteux (impossibilité de contrôle coprologique tardif), la positivité de l'intradermo-réaction, la labilité des images radiologiques et la négativité des autres examens permettent d'affirmer l'étiologie ascaridienne.

d) Enfin chez 4 cas de syndrome de Lœffler d'origine non ascaridienne dont : un cas paraissant en relation avec une trichocéphalose, un cas avec une lambliaose, un cas avec l'anguillulose et un autre cas chez un polyparasité, l'intradermo-réaction à l'antigène ascaridien a toujours été négative.

3° J. COUDERT, dans la thèse de Ch. DOUCHET, en appliquant la Réaction de Diffusion en Milieu Gélifié à des para-

sitoses, a pu tester un certain nombre de sérums de malades atteints d'Ascariidose. Le résultat obtenu est le suivant : Sur 4 malades présentant un syndrome de Lœffler avec une intradermo-réaction à l'antigène ascaridien fortement positive, la Réaction de Diffusion en Milieu Gélifié est positive avec les sérums de tous ces 4 malades.

D'une autre façon, M. COLY, en testant des sérums de malades par la Réaction d'Agglutination des particules de Collodion sensibilisées, a pu mettre en évidence que 3 malades, atteints de syndrome de Lœffler et ayant réagi fortement à l'intradermo-réaction, ont tous présenté une réaction positive à cette réaction d'agglutination.

En résumé : Ces différentes observations confirment la très grande valeur, pour le diagnostic pratique, d'un test cutané d'allergie sous forme d'une intradermo-réaction avec l'antigène lyophilisé.

a) Dans la première série d'observations :

— 15 cas de syndrome de Lœffler ascaridien.

— 12 ont réagi à l'intradermo-réaction.

b) Dans la seconde série, celle de BONNEFOY :

— 3 cas de syndrome de Lœffler complet, tous les trois ont réagi à l'intradermo-réaction.

— 17 cas de syndrome de Lœffler incomplet, le test cutané confirme le diagnostic.

— Enfin, 4 cas de syndrome de Lœffler non ascaridien, tous les 4 ont présenté le test cutané négatif.

c) Dans la troisième série d'observations : on peut mettre en évidence des anticorps dans le sérum des 7 malades présentant le syndrome de Lœffler avec le test ascaridien positif.

B. — LA REACTION D'AGGLUTINATION DES PARTICULES DE COLLODION SENSIBILISEES (TEST DE CAVELTI)

Pour qu'une réaction antigène-anticorps soit facilement mise en évidence, un certain nombre de conditions doivent être réalisées. Certaines d'entre elles tiennent à l'anticorps : titre, avidité, etc... ; d'autres à l'antigène : ce dernier doit être de taille suffisante pour que sa fixation par l'anticorps

soit visible ; toutefois, son volume ne doit pas être trop important car il générerait l'agglutination.

Ainsi a-t-on été conduit à essayer d'augmenter la taille des antigènes utilisés dans certaines réactions en les faisant adsorber à la surface des particules de grande taille : soit particules inertes de collodion (méthode de Cavelti), de Bentonite (méthode de Bozicevitch), soit fixation sur les globules rouges-supports (réaction d'hémagglutination passive).

C'est LÆB qui a montré que les particules de collodion sensibilisées par un antigène se recouvre d'un film de cet antigène. JONES utilisa des particules de collodion ainsi que des hématies comme support d'antigène. ZOZAYA montra ensuite que des polysaccharides absorbés sur un support colloïde et principalement sur les particules de collodion peuvent acquérir des propriétés antigéniques.

Des particules inertes de nature très différente furent alors essayées : bactéries, hématies, particules de cholestérol et de collodion... et d'autres qui n'ont pu être retenues, mais les résultats les plus intéressants furent obtenus avec les particules de collodion.

CANNON et MARCHALL, ainsi que GOODNER, utilisèrent l'agglutination des particules de collodion, en regard d'autres réactions sérologiques, pour titrer des anticorps dans des sérums d'animaux inoculés avec différentes souches bactériennes. Enfin c'est CAVELTI qui améliore la technique de préparation des particules de collodion, donnant surtout des notions nettes sur la concentration de la suspension et sur la technique de la réaction d'agglutination.

Technique

La technique de cette réaction ainsi que la méthode de préparation de collodion est développée en détail dans la thèse de M. COLY. Nous ne signalons ici que quelques notions générales du test.

Cette technique de la réaction d'agglutination comporte :

— La sensibilisation des particules de collodion par l'antigène.

— La dilution de l'antigène.

— La dilution du sérum.

— La conduite générale du test.

1° Sensibilisation des particules de collodion par l'antigène :

Deux méthodes sont proposées par CAVELTI : l'une consiste en une sensibilisation des particules par l'antigène et l'élimination subséquente de l'antigène non absorbé ; l'autre consiste en un simple mélange antigène-collodion. Ce dernier procédé a l'avantage d'une grande rapidité et généralement les réactions non spécifiques peuvent être contrôlées plus facilement.

La meilleure façon de réaliser le mélange collodion-antigène dépend de la tendance que possède l'antigène à provoquer une agglutination non spécifique des particules de collodion. Si cette tendance est faible, il vaut mieux diluer le collodion avec l'antigène non dilué et de diluer ensuite le mélange jusqu'à la densité finale. Si la tendance à l'agglutination non spécifique est considérable, il est préférable de diluer l'antigène dans la solution saline (solution de ClNa à 9 %) avant d'ajouter la suspension de particules. C'est cette deuxième façon de procéder qui est la plus utilisée dans notre laboratoire.

Aussitôt que le mélange antigène-collodion est réalisé, il est agité rigoureusement pour le rendre homogène et après un délai de quelques minutes, il est ajouté aux dilutions de sérum.

2° Dilution de l'antigène :

Quelle que soit la méthode de sensibilisation utilisée, le choix d'une dilution optimum de l'antigène est de grande importance pour la réussite de la réaction, comme l'ont montré EISLER et CAVELTI. Si l'antigène est trop concentré il en résulte une suppression complète ou partielle de réaction visible ; une concentration trop faible pour sensibiliser les particules de collodion donne évidemment une réaction négative. Dans notre laboratoire, nous avons obtenu les meilleurs résultats avec des dilutions de l'antigène allant de 1/1.000 à 1/2.000. Nous signalons que l'antigène lyophilisé est le plus employé.

3° Dilution des sérums :

Nous utilisons des sérums frais décomplémentés pendant 3 minutes à 60°C. ou 30 minutes à 56°C. Les dilutions sont faites par dédoublement dans du sérum physiolo-

gique à partir du 1/10 jusqu'au 1/640 ; et en général la dilution jusqu'à 1/80 seulement est suffisante.

4° Conduite du test :

On utilise des tubes à sérologie de 11×100 m/m qu'on numérote pour éviter des erreurs de répartition après la centrifugation finale.

Pour des raisons de commodité, nous ne faisons pas la distribution en fraction de 1 cc., mais en gouttes, de la façon suivante :

	<i>Tube R.</i>	<i>Tube témoin S:</i>	<i>Témoin Ant.</i>
Collodion	3	3	3
Antigène	3	—	3
Sérum physiolog.	—	3	4

(Incubation 3 à 5 minutes)

Sérum Immun.	4	4	—
-------------------	---	---	---

Ce qui donne au total 10 gouttes dans chaque tube, soit environ 0,5 cc.

Les tubes sont alors agités et mis à incuber à la température du laboratoire pendant une à deux heures, puis centrifugés pendant 3 minutes à 1.400 t/minute.

La lecture peut se faire de deux façons : soit par une lecture macroscopique en plaçant les tubes devant un écran noir, au-dessus et en arrière duquel se trouve la source lumineuse ; soit par une lecture microscopique : on fait alors des agglutinations sur lame à cupules plexi-glas qu'on place sur l'agitateur de type Kline pendant 45 minutes et la lecture se fait au microscope à faible grossissement. Cette deuxième méthode de lecture est plus pratique et semble plus fidèle ; on a pu constater une certaine agglutination à la lecture microscopique alors que l'examen macroscopique était négatif.

On peut considérer comme positive une réaction au titre de 1/40°.

Sérums testés

Cette année, il nous manque de sérums ascaridiens ; nous nous contentons d'utiliser seulement des observations de notre prédécesseur, M. COLY qui, en 1958 au laboratoire de parasitologie, a testé, en utilisant l'antigène dilué au 1/1.000, un certain nombre de sérums de malades ayant présenté un syndrome de Lœffler et ayant réagi à l'intradermo-réaction à l'extrait ascaridien :

- N° 1. Malade présentant une éosinophilie à 3 % et un gros foie, suspecté d'affection parasitaire.
- N° 2. Malade présentant une éosinophilie à 12 %, pas de syndrome de Lœffler.
- N° 3. Malade ayant présenté un syndrome de Lœffler ; intradermo-réaction à l'antigène ascaridien (positive + + + +).
- N° 4. Malade ayant réagi à l'intradermo-réaction à l'antigène ascaridien (positif + +).
- N° 4 bis. Ce même sérum a été pris après une semaine de conservation à la glacière.
- N° 5. Malade ayant présenté une réaction positive à l'intradermo-réaction à l'antigène ascaridien ; pas de syndrome de Lœffler.
- N° 6. Malade ayant éliminé une femelle d'*Ascaris* dans ses selles.

Les résultats obtenus pour ces différents sérums sont rassemblés dans le tableau suivant :

	Dilution des sérums						Témoins	
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	T.A.	T.S.
N° 1	—	—	—	—	—	—	—	—
N° 2	—	—	—	—	—	—	—	—
N° 3	+	±	—	—			—	—
N° 4	+ + + +	+ + +	+ + +	+ +			—	—
N° 4 ^{bis}	±	+	±	±			—	—
N° 5	+	+ +	+ +	+ +		+	—	—
N° 6	±	+	+	—			—	—

En résumé :

La réaction semble intéressante et utilisable. Mais elle semble aussi manquer, toutefois, d'un certain degré de sensibilité. Par exemple pour le malade N° 3 qui réagit fortement à l'intradermo-réaction et celui N° 6 qui élimine l'*Ascaris*, la réaction d'agglutination des particules de collodion est faiblement positive. Donc pour que la réaction soit nette il faut avoir un certain degré d'infestation par les *Ascaris*.

**C. — LA REACTION D'AGGLUTINATION DE LA SOLUTION
DES PARTICULES DE BENTONITE SENSIBILISEES**

En 1951, BOZICEVITCH et ses collaborateurs étudient l'agglutination de particules de Bentonite sensibilisées par un antigène extrait de trichines du rat. Cette réaction fut reprise par NORMAN, SADUN, ALLAIN, KAGAN et DONALDSON pour l'étude d'antigènes purifiés préparés à partir de trichines. Par la suite, la réaction fut appliquée au diagnostic d'autres maladies parasitaires : Kyste hydatique et échinocoque, *Toxocara canis* puis *Ascaris*.

A Lyon, depuis 1958, J. COUDERT et son élève Y. GIBERT appliquent cette technique à toutes affections dues aux parasites à cycle tissulaire.

Préparation de la suspension de Bentonite : La préparation de la suspension de Bentonite décrite par J. COUDERT diffère légèrement de celle qui a été indiquée par BOZICEVITCH et ses collaborateurs, peut-être d'ailleurs, en raison de l'emploi d'une matière d'origine différente. Faute de Bentonite d'origine américaine, on a utilisé une montmorillonite commercialisée en France sous le nom de Bentonil C.

On met en suspension 0,7 gr. de Bentonil dans 100 cc. d'eau distillée au moyen d'un mélangeur du type utilisé pour la préparation de collodion (une baguette de verre en forme de crochet équilibré statiquement, montée sur le raccord d'un moteur électrique à vitesse variable, est in-

roduite par en-dessus dans un flacon de 250 ml. La fermeture hermétique est assurée par un disque de caoutchouc placé sur la baguette juste au-dessus du col du flacon). La suspension bien homogène est diluée à 500 cc. dans l'eau distillée, en flacon bouché, bien agité, puis abandonnée au repos pendant une heure à la température du laboratoire. Les grosses particules se sédimentent, le surnageant est décanté, centrifugé à 1.300 t/mn pendant 15 minutes. Le liquide surnageant de cette opération est à nouveau centrifugé à 1.800 t/mn pendant 15 minutes, et le culot, cette fois, est remis en suspension dans 10 cc. d'eau bi-distillée.

Cette suspension peut se conserver plusieurs jours et même plusieurs semaines.

Sensibilisation des particules de Bentonite : La suspension préparée doit être sensibilisée, au moment de l'emploi, avec l'antigène (l'antigène lyophilisé dilué au 1/100^e, soit 1 ml d'eau distillée par ampoule). On centrifuge 10 cc. de suspension de Bentonite à 4.000 t/mn pendant 5 minutes, le surnageant est décanté, le culot remis en suspension par agitation dans 1 cc. d'eau bi-distillée, et on mélange à 2 cc. d'antigène, on laisse en contact, de préférence, 24 heures à + 4° C., plutôt que 30 minutes à la température ordinaire. On centrifuge à nouveau après avoir ajouté 10 cc. d'eau bi-distillée. On reprend par 5 cc. d'eau, on ajoute 1 cc. de solution à 1 % de vert brillant. Un repos de 5 minutes est nécessaire, puis, après dilution dans 10 cc. d'eau, on centrifuge deux fois pour laver, et finalement, le culot est repris dans 2 à 4 cc. de tampon phosphaté à pH 7,3.

Cette suspension sensibilisée peut éventuellement se conserver 15 à 20 jours à — 4° C.

Technique de la réaction : La réaction s'effectue sur une plaque à godets en plexiglass. Dans chaque godet sont déposées 2 gouttes de chaque dilution de sérum, chauffé à 60° C. pendant 3 minutes, et 2 gouttes de suspension de Bentonite sensibilisée. Après agitation à la main pour bien répartir les particules dans les dilutions de sérum, la plaque est placée sur l'agitateur de Kline. L'agitation est fixée de 100 à 120 t/mn pendant 15 à 20 minutes.

La lecture se fait alors immédiatement, soit en éclairage oblique sur fond blanc, sur lequel les agrégats se détachent nettement grâce à leur coloration, soit au microscope à faible grossissement.

La notation pour chaque dilution se fait de 0, lorsque les particules restent en une fine suspension homogène, à ++++ lorsque toutes les particules sont groupées en amas plus ou moins volumineux. Un témoin sérum sans antigène et un témoin sans sérum permettent de reconnaître, le cas échéant, une floculation non spécifique. On peut considérer la réaction comme positive si une agglutination cotée ++ est obtenue avec une dilution à 1/20^e au moins du sérum.

Sérums testés

Par manque de sérum ascaridien à étudier, nous n'avons pas assez d'observations concernant l'application de la réaction à cette parasitose. L'année durant, nous n'avons pu, avec Y. GIBERT, que tester quelques vieux sérums conservés depuis un an à + 4° C.

Ces sérums proviennent de malades ayant présenté un syndrome de Lœffler avec intradermo-réaction positive à l'antigène ascaridien ou ayant éliminé des œufs d'*Ascaris* dans les selles.

	Dilution de sérums		
	1/4	1/16	1/64
LONG : Œufs d' <i>Ascaris</i> dans les selles	+++	++	—
DID : Syndrome de Lœffler	+++	++	—

Par vieillissement, le taux d'anticorps a pu diminuer au cours de la conservation, ce qui donne une réaction assez faible. Mais si nous considérons l'étude faite par KAGAN et ses collaborateurs, nous pouvons apprécier la très grande valeur de la réaction d'agglutination des particules de Bentonite pour le diagnostic de cette affection parasitaire.

En ce qui concerne l'application de cette technique à d'autres parasitoses : Distomatose, Bilharziose, Hydatidose, Trypanosomiase..., nous avons un nombre d'observations suffisant pour affirmer que le résultat obtenu est très encourageant.

D. — REACTION DE DIFFUSION EN MILIEU GELIFIE (TEST D'OUCHTERLONY)

L'utilisation des méthodes chimiques seules avait déjà permis, dès la fin du siècle dernier, de distinguer les albumines des globulines et même de fractionner ces dernières en euglobuline et en pseudo-globuline.

Parallèlement aux recherches chimiques, le fractionnement des protéines peut être également réalisé par des techniques purement physiques : l'ultra-centrifugation et surtout l'électrophorèse en milieu liquide ont fourni les bases modernes de la classification des protéines sériques et plasmatiques. Puis l'électrophorèse sur papier, méthode aussi simple qu'onéreuse, permet d'obtenir des diagrammes aujourd'hui classiques.

Une troisième technique d'étude des solutions complexes de protéines met en œuvre des réactions immunologiques. Elle permet de différencier et même d'isoler les protéines possédant des propriétés antigéniques, grâce à l'action de l'antisérum correspondant. Cependant, malgré ses quelques applications au dosage de diverses fractions protéiques, elle reste essentiellement qualitative, mais elle présente le double avantage d'être extrêmement sensible et spécifique.

Les méthodes immunologiques ont acquis une valeur nouvelle lorsqu'en 1946, à l'Institut Pasteur de Paris, OUDIN proposa de réaliser les réactions antigène-anticorps en milieu gélifié. Ces conditions permettent l'identification et le dénombrement des multiples antigènes souvent présents dans les milieux biologiques.

Principes généraux

Les premières réactions de précipitation spécifique en milieu gélifié, réalisées par OUDIN, consistent à superposer à l'immun-sérum gélifié la solution antigénique ; les antigènes diffusent dans le gel et donnent lieu à des zones de précipitation (« Diffusion simple »). Une deuxième modalité a été introduite par OUCHTERLONY. Ce dernier auteur utilise une simple boîte de Pétri dont le fond est recouvert d'une couche de gel de gélose dans laquelle on creuse deux petits puits ; on y introduit respectivement l'antigène ou le mélange antigénique et l'antisérum. Les deux liquides diffusent dans le gel et l'on note après quelque temps, la présence d'un ou plusieurs arcs de précipitation selon le nombre de constituants antigéniques (« Diffusion double »).

Nous retenons tout particulièrement cette dernière technique ; elle a fait l'objet d'un essai d'application à des Parasitoses par J. COUDERT et Ch. DOUCHET. Le résultat obtenu est très intéressant, nous en parlerons plus loin.

Préparation de gélose

La gélose doit être très pure, limpide et bien préparée. D'elle, en effet, dépendent la netteté, la finesse des signes de précipitation.

Différentes préparations de gélose sont préconisées par les auteurs : celles de MOOSBRUGGER, de DIFCO... A Lyon nous avons utilisé celle de PROLABO qui nous a donné de bons résultats. « Dans un litre d'eau distillée bouillante on met 15 grammes de gélose purifiée, 8 grammes de ClNa , 0,10 gramme de merthiolate. Après une bonne agitation, la gélose est dissoute. On en vérifie le pH, on ajoute quelques traces de carbonate de soude pour obtenir un pH neutre et on stérilise à l'autoclave. »

Il est recommandé de filtrer la gélose, car il y a souvent des impuretés qui gênent beaucoup la lecture ; par contre, l'addition de colorants n'est pas très nécessaire, les réactions sont aussi lisibles sans coloration de la gélose.

Les cupules, trous dans lesquels sont placés les différents réactifs, peuvent différer tant par leur taille que par leurs positions réciproques. Nous avons adopté des

cupules de 7 m/m de diamètre. Autour d'une cupule centrale sont pratiquées quatre autres cupules équidistantes disposées en carré. Suivant le cas, on peut mettre l'antigène au centre et les sérums en périphérie, mais il vaut mieux utiliser plusieurs concentrations du même antigène et mettre le sérum au centre.

Pour pratiquer ces trous, on pose la boîte de Pétri sur un repère et à l'aide d'un emporte-pièce on perce la gélose ; avec une spatule, on enlève le bloc ainsi découpé. On colmate le fond de la cupule en ajoutant une ou deux gouttes de gélose liquide.

Sérums testés

En même temps que M. COLY, qui pratique la réaction d'agglutination des particules de collodion, Ch. DOUCHET a testé, l'année dernière, un certain nombre de sérums de malades ayant présenté un syndrome de Loeffler et ayant réagi à l'intradermo-réaction à l'antigène ascaridien ou ayant éliminé des œufs d'*Ascaris* dans leurs selles. L'antigène utilisé est l'antigène lyophilisé. Chaque ampoule, à laquelle est ajouté 1 cc. d'eau distillée, donne une solution ayant une concentration de 1 %.

Le résultat obtenu est le suivant :

Malades	Renseignements cliniques	T. OUCHTERLON
COM...	Malade présentant une éosinophilie à 12 % et ayant éliminé de nombreux œufs d' <i>Ascaris</i> dans ses selles	+++
LENG...	Malade présentant une éosinophilie à 8 % et ayant éliminé plusieurs <i>Ascaris</i>	+++
LOUV...	Malade ayant éliminé de nombreux œufs d' <i>Ascaris</i> dans ses selles	0

MORER...	Malade ayant présenté un syndrome de Loeffler, test cutané +++	++
DID... ..	Malade ayant présenté un syndrome de Loeffler, test cutané à l'antigène ascaridien ++++	++
HERZEL... .	Malade ayant présenté un syndrome de Loeffler, intradermo-réaction très positive à l'antigène ascaridien ++++	++
BEN... ..	Malade ayant présenté un syndrome de Loeffler, test cutané très positif ++++	0
BAY... ..	Malade ayant présenté une éosinophilie à 10 %, pas de syndrome de Loeffler, ictère bénin, test cutané à l'antigène ascaridien ++++	+
FIA... ..	Malade ayant éliminé des Ascaris	++
MARTEW....	Malade ayant éliminé des Ascaris, éosinophilie à 12 %	++
BENA... ..	Malade ayant éliminé des Ascaris, éosinophilie à 12 %	+++
HAM... ..	Malade ayant une bilharziose vésicale, son sérum a été testé avec plusieurs antigènes ; il n'a pas eu l'examen des selles	+++
LOST... ..	Malade ayant éliminé 3 Ascaris, éosinophilie à 3 %	+++

En résumé :

La réaction semble intéressante et utilisable. D'après ces observations, avec les sérums de 13 malades testés, nous n'avons eu que deux réactions négatives. On peut

donc évaluer la positivité à environ 85 %. Avec cette réaction, il faut utiliser l'antigène concentré et à plusieurs dilutions.

En ce qui concerne les deux cas de réaction négative, on peut discuter s'il ne s'agit pas soit d'*Ascaris* différent (*Toxocara canis*) dont les antigènes ne sont pas homologues de l'*Ascaris Lumbricoïdes*, soit du taux d'anticorps qui reste trop bas pour la sensibilité de la réaction.

E. — L'IMMUNO-ELECTROPHORESE

L'immuno-électrophorèse, technique mise au point à l'Institut Pasteur de Paris par GRABAR et WILLIAMS, en 1953, combine les avantages de la séparation électrophorétique et de l'identification immunologique des constituants protéiques : mais les divers antigènes, au lieu d'être déposés séparément dans différents puits, sont introduits en une fois sous la forme d'une solution complexe et sont séparés sous l'influence d'un champ électrique.

Puis, SCHEIDEGGER remarque que la technique originale immuno-électrophorétique décrite par GRABAR et WILLIAMS nécessite l'étalement de la gélose sur les plaquettes de verre d'assez grand format (13×18 cm) ; et si la quantité de solution antigénique soumise à l'électrophorèse est minime (0,1 à 0,3 mgr. de protéine), le volume d'immunsérum nécessaire à la réaction de précipitation est, au contraire, assez important (1 à 2 ml), inconvénient notable en raison du prix de cet anti-sérum. D'autre part, les lectures ne sont possibles qu'après 5 à 10 jours de diffusion. De ce fait, cet auteur préconise et met au point une autre méthode : la « Micro-méthode d'immuno-électrophorèse », dont les principes sont les mêmes que ceux énoncés par GRABAR et WILLIAMS, mais qui a l'avantage de n'utiliser que de petites quantités de solution antigénique et surtout d'anti-sérum ; elle permet, en outre, une lecture beaucoup plus rapide.

Son application pratique

Bien que l'analyse immuno-électrophorétique ne soit connue que depuis sept ans, son application pratique est déjà assez étendue.

En clinique elle permet d'étudier l'anomalie protéique de nombreuses maladies telles que les myélomes, les macroglobulinémies, les lupus érythémateux disséminés, les néphropathies et bien d'autres affections... ; et dans le domaine des études biologiques elle permet de résoudre avec élégance et rapidité deux problèmes difficiles qui ont bien souvent arrêté les chercheurs :

— Connaître les différents constituants d'un milieu protéique complexe.

— Vérifier l'homogénéité d'une préparation protéique : l'immuno-électrophorèse constitue à cet égard un magnifique critère de pureté.

Enfin, elle permet l'étude des anticorps qui peut s'effectuer avec commodité en inversant les réactifs d'une immuno-électrophorèse classique ; c'est l'immun-sérum que l'on soumet au champ électrique, tandis que l'antigène est déposé dans la gouttière de diffusion.

L'immuno-électrophorèse constitue la forme la plus perfectionnée des réactions de précipitation, elle est très sensible et très spécifique (NEUZIL). Mais nous n'avons pas d'observations concernant son application à des Parasitoses. Par ailleurs, c'est une méthode d'investigation de réalisation difficile et elle n'est pas encore mise à la disposition du clinicien en pratique courante. Nous ne faisons, dans cette thèse, que signaler son apparition.

F. — LA REACTION D'HEMAGGLUTINATION

En 1951, BOYDEN a étudié la fixation des protéines sur les globules rouges tannés et l'hémagglutination de ceux-ci par des sera antiprotéine. La technique consiste à traiter des hématies 0 par l'acide tannique à une concentration faible, puis à fixer sur celles-ci un antigène correspondant à un anticorps que l'on croit présent dans le sérum.

Puis, A. ANDRÉ reprit la méthode de BOYDEN et réussit à fixer des antigènes A, ou B sur les hématies 0 tannées et il obtint leur agglutination par les iso-sérums anti-A et anti-B.

A la suite de ces travaux, beaucoup de chercheurs utilisèrent la réaction d'hémagglutination passive en em-

ployant des globules animaux ou humains pour l'étude de divers antigènes : bactériens, viraux, mycosiques et protoïques.

Les techniques d'hémagglutination passive permettent également de rechercher des anticorps actifs vis-à-vis des parasites ; il suffit de préparer des extraits antigéniques de ces vers sous la forme aussi purifiée que possible et stabilisée, par exemple par lyophilisation comme le recommande J. COUDERT ; on utilise ensuite des hématies revêtues de ces antigènes.

C'est ainsi que Mc ENTÉGARD applique cette méthode dans les recherches portant sur les *Trichomonas vaginalis* ; KAGAN met en évidence des anticorps actifs sur *Schistosoma mansoni* et GARABEDIAN obtient des résultats positifs avec des antigènes hydatiques ; MUNIZ puis BOUISSET utilisent cette méthode dans la recherche de l'immunisation trypanosomienne ; KAGAN, enfin, détecte des anticorps anti-ascaris sur divers animaux artificiellement immunisés.

Ce dernier auteur pratique la réaction d'hémagglutination pour étudier les anticorps et la parenté antigénique des différentes espèces d'*Ascaris*. Il prépare, chez les lapins, les anti-sérums d'*Ascaris* du porc, *Ascaris* humains, *Toxocara* du chien et du chat, en injectant l'antigène lyophilisé et par l'infestation d'œufs vivants. Avec les immun-sérums ainsi obtenus, il détermine les titres d'hémagglutination vis-à-vis des antigènes ascaridiens homologues et hétérologues.

Titre d'hémagglutination des anti-sérums d'Ascaris et des Toxocara avec des antigènes homologues et hétérologues (extraits de vers entiers)

Anti-sérums obtenus avec extraits de vers entiers	Extrait de vers entiers			
	Ascaris		Toxocara	
	A. porc	A. hum.	Cati	Canis
<i>Ascaris</i> du porc	5.120	2.560		40
<i>Ascaris Lumbricoïdes</i> ...	1.280	1.280	80	320
<i>Toxocara cati</i>	1.280	5.120	2.560	2.560
<i>Toxocara canis</i>	640	640		2.560

L'auteur conclut que les anti-sérums interfèrent avec les antigènes d'*Ascaris* et de *Toxocara* dans l'hémagglutination.

Le sérum obtenu par l'injection d'antigène contient des taux d'anticorps plus élevés que des sérums obtenus par infestation avec des œufs vivants.

En somme, la réaction d'hémagglutination dans le domaine d'Ascariodose semble intéressante, elle permet la mise en évidence des anticorps ; mais n'ayant pas d'observations avec des sérums humains, il ne nous est pas possible de déterminer le taux de la sensibilité et de la spécificité de cette réaction. Pour le diagnostic des autres maladies parasitaires, telles que des Trypanosomiasés, BOUISSET, DUCOS et RUFFIÉ trouvent que cette réaction est spécifique et surtout très commode, et, entre les mains d'un opérateur entraîné, peut être utilisée en série avec un risque d'erreur très faible.

CHAPITRE III

LA VALEUR DIAGNOSTIQUE DES DIFFÉRENTES REACTIONS IMMUNOLOGIQUES

1° *L'intradermo-réaction à l'antigène ascaridien* est un examen très simple, elle est facile à mettre en œuvre au lit du malade. Elle est très sensible à condition d'utiliser un antigène convenablement titré. Elle est intense à la période initiale d'infestation. Elle tend à s'atténuer à la période de parasitisme chronique, et persiste faiblement à la période de guérison.

La réponse la plus souvent observée est la réaction précoce d'anaphylaxie de type urticarien évoluant en moins de quarante minutes et d'un diamètre supérieur à cinq centimètres. La réponse tardive d'allergie cutanée est moins constante, au moins dans son aspect typique.

2° *La réaction d'agglutination des particules de colloïdion sensibilisées* est assez intéressante pour le diagnostic de l'Ascaridiose. Les sérums doivent être utilisés frais. Elle a une sensibilité légèrement supérieure à celle de Bentonite, mais sa lecture en est moins aisée, et les réactions non spécifiques, bien que facilement décelables, semblent plus fréquentes. On la réserve comme méthode de contrôle en cas douteux.

3° *La réaction d'agglutination des particules de Bentonite sensibilisées, selon la technique de Bozicevitch*, présente l'avantage d'une préparation simple, d'une sensibilité et d'une régularité satisfaisantes. La lecture de l'agglutination des particules colorées au vert brillant est

facile. L'échelle des dilutions du sérum doit aller au moins de $1/8^e$ à $1/160^e$. Les réactions non spécifiques ne dépassent pas en général le taux de $1/20^e$, ou sont facilement décelées par l'observation des témoins. Une réaction nettement positive dépasse le plus souvent le taux de $1/40^e$, et atteint, pendant la période de parasitisme intensif de la période d'invasion, des taux de l'ordre de $1/400^e$ à $1/800^e$ et plus. Les taux limites au-dessous de $1/20^e$ sont le plus souvent le fait d'agglutinations paraspécifiques ou des témoins d'une infestation ancienne et non actuellement en évolution.

4° *La réaction de précipitation en gélose, selon la technique d'Oudin-Ouchterlony* s'est avérée, pour le diagnostic de l'Ascaridiose, très intéressante. Elle a l'avantage de pouvoir utiliser des sérums assez vieux et parfois un peu hémolysés. C'est une réaction d'exécution simple et facile, elle nécessite, cependant, des antigènes facilement concentrables, comme les antigènes lyophilisés, et d'autre part ne donne de réponse nette qu'à partir d'une certaine concentration en anticorps.

Les réactions basées sur la présence d'anticorps circulants disparaissent en quelques mois après guérison du parasitisme.

CONCLUSIONS

Pour le diagnostic de l'Ascariidiose, on aura un grand intérêt à recourir aux réactions immunologiques, surtout au cours de la période d'invasion, pour préciser l'étiologie d'un syndrome d'infiltrat pulmonaire, bien avant l'établissement de la ponte dans l'intestin.

De plus, ces réactions sont le seul témoin possible des infestations à cycles incomplets, qui n'aboutiront jamais à l'établissement dans l'intestin d'adultes mûrs, soit qu'il s'agisse d'*Ascaris* de l'animal, égarés chez l'homme, soit qu'une prémunition, due à une infestation antérieure, entrave le développement normal du parasite.

Chacune de ces réactions constitue un moyen de dépistage précoce et un moyen d'orienter le diagnostic étiologique ; il est souhaitable que plusieurs réactions soient pratiquées chez un même malade, pour augmenter le pourcentage de certitude, par exemple le test cutané, qui est facilement réalisable, avec l'une des autres réactions sérologiques : la réaction d'agglutination des particules de collodion ou de Bentonite, la réaction de précipitation en milieu gélosé, etc...

Vu :

LE DOYEN,
A.-H. HERMANN.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
PROFESSEUR J. COUDERT.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 21 octobre 1960.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
P. LOUIS.

BIBLIOGRAPHIE

- ANDRÉ A. — Facteur de spécificité dans la réaction d'héماغglutination après tannage des hématies. *C.R. Soc. Biol.*, 1956, 150, 8-9, 1.651.
- ANTOINE B., DUCROT H. — Une technique de recherche des anticorps sériques vis-à-vis d'antigènes non figurés : l'agglutination en tube d'hématies tannées et sensibilisées (l'héماغglutination passive). *Rev. Franç. Et. Clin. Biol.*, 1957, 2, 81.
- BONNEFOY G. — Syndrome de Lœffler incomplet d'origine ascaridienne. *Thèse* Lyon, 1958.
- BRUMPT E. — Précis de Parasitologie. 1949, 6^e édit. Masson, 835-849.
- BOYDEN S.V. — The absorption of proteins on erythrocytes treated with acid and subsequent hemagglutination. *J. Exp. Med.*, 1951, 93, 107.
- BOUISSET L., DUCLOS J., RUFFIÉ J. — Technique d'héماغglutination passive dans la recherche de l'immunisation trypanosomienne. *Semaine des Hôpit., Path., Biol.*, Vol. 8, N° 1-2, janv. 1960, 91-98.
- BOZICEVITCH J., TOBIE J.E., THOMAS H.M. et WARD S.B. — A rapid flocculation test for the diagnosis of trichinosis. *Publ. Hlth. Rep.*, 1951, 66, 806-814.
- BOZICEVITCH J., BUNIN J.J., FREUND J., WARD S.B. — Bentonite flocculation test for rheumatoid arthritis. *J. of Imm.*, 1958, 97, 180-183.
- BOZICEVITCH J. — Immunological diagnosis of parasitic diseases. National Institute of Health parasitic infection in man. 1951, Columbia University Press, New-York, 37-51.
- BOUCHER H., COUDERT J., BASTIEN J. et Coll. — Une petite épidémie de syndrome de Lœffler ; intérêt des tests

- cutanés avec un antigène ascaridien en cas de cycle vermineux incomplet. *Semaine des Hôpitaux, Paris*, 1955, 31, 28, 1.623-1.625.
- COUDERT J. — Mise en évidence des anticorps spécifiques dans quelques helminthiases tissulaires. *Semaine des Hôpit., Path., Biol.*, 1960, Vol. 8, N° 1-2, 139-143.
- COUDERT J. — Valeur actuelle du diagnostic biologique dans les helminthiases tissulaires. *Journées Lyonnaises de Médecine*, 1960, Tome IX, N° spécial, 525-529.
- COUDERT J. — Antigènes lyophilisés en parasitologie. *Presse Méd.*, 1955, 63, 1.080-1.081.
- COUET P. — Le syndrome de Lœffler d'origine ascaridienne. *Thèse Lyon*, 1959.
- COLY M. — Essai d'application de la réaction d'agglutination des particules de collodion à quelques parasitoses. *Thèse Lyon*, 1955.
- CAVELTI P.A. — Studies on technic of collodion agglutination ; influence of certain qualities of collodion particles and of proportions of antigen and collodion on sensitivity and specificity of reaction. *J. of Imm.*, 49, 365, 1944.
- CAVELTI P.A. — The technic of collodion particles agglutination. *J. of Imm.*, 57, 191, 1947.
- DOUCHET Ch. — Essai d'application de la réaction de diffusion en milieu gélifié à quelques parasitoses (selon la technique d'Ouchterlony). *Thèse Lyon*, 1958.
- DAUSSET J., BERGEROT-BLONDEL Y., BRÉCY. — La réaction d'hémagglutination passive des hématies tannées recouvertes d'extraits plaquettaires. *Sang*, 1957, 58, 679.
- GRABAR P., BURTIN P. — Analyse électrophorétique, premiers résultats obtenus avec sérums pathologiques. *Presse Médicale*, 1955, 63, 38, 804-805.
- GARABEDIAN G.A., MATOSSIAN R.M., DJANIAN A.Y. — An indirect hemagglutination test for hydatid disease. *J. of Imm.*, 1957, 78, 269.
- GIBERT Y. — Application de l'agglutination des particules de Bentonite sensibilisées en parasitologie. *Thèse Lyon*, 1960.
- GLIKSON J. — Sur quelques cas atypiques d'ascaridiose. *Thèse Bordeaux*, 1956.

- KAGAN I.G. — Hemagglutination after immunization with schistosome antigens. *Science*, 1955, 122, 376.
- KAGAN I.G. — Hemagglutination test with ascaris antigens. *J. of Imm.*, 1958, 80, 396.
- KAGAN I.G., ALLAIN D.S. et NORMAN L. — An evaluation of the hemagglutination and flocculation tests in the diagnosis of Echinococcus disease. *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.*, 1959, 8, 1, 51-55.
- KAGAN I.G., NORMAN L. et ALLAIN D.S. — Studies on the serology of visceral larva migrans. Hemagglutination and flocculation tests with purified ascaris antigen. *J. of Imm.*, 1959, 83, 3, 297-301.
- KAGAN I.G. — Serum-Agar double diffusion. Studies with ascaris antigen. *J. of Imm.*, 1958, 80, 400-406.
- LOUINEAU B.J. — La méthode de l'intradermo-réaction. *Thèse* Paris, 1921.
- LAFORÊT C.J. — Contribution à l'étude du syndrome de Lœffler dans ses rapports avec l'ascaridiose. *Thèse* Paris, 1956.
- Mc ENTERTON M.G. — The application of hemagglutination of erythrocytes sensitized with extracts of tubercle bacilli. *J. Exp. Med.*, 1948, 88, 521.
- MANDOUL R., BOULARD C. — Ascaridiose. Symptomatologie. Diagnostic et traitement. *Encyclopédie médico-chirurgicales* (Maladies infectieuses), 3, 8.116 A, 30 et 8.116 A, 50.
- MORÉNAS. — Mémoire de Morénas.
- NEUZIL E. et MASSEYEFF R. — Immuno-électrophorèse et ses applications. *Bulletin de la Société médicale d'Afrique Noire de langue française*, Vol. IV, N° 2, 2^e trim., 1959.
- OUÏDIN J. — Réaction antigène-anticorps en milieu gélifié. *C.R. Acad. Sc.*, 1946, 222, 115-116.
- OUÏDIN J. — L'analyse immuno-chimique par la méthode des gels. Moyens et techniques d'identification des antigènes. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, 89, 531-555.
- OUCHTERLONY. — Antigen antibody reactions in gels and the practical application of this phenomenon in the laboratory diagnosis of diphtheria. *Thèse* Stockholm, 1949.

- OLIVIER-GONZALEZ J., LI-CHI-BANG, SEVEL J. — Les phénomènes d'immunité dans les helminthiases. *Biol. Méd.*, 1957, 46, 312.
- PAUTRIZEL R. et BAILLENGER J. — Immunité et l'allergie dans les helminthiases. *Semaine des Hôpit., Path., Biol.*, 1960, Vol. 8, N° 1-2, 131-138.
- RANQUE J., DEPIED R. et NICOLI R.M. — Les phénomènes d'immunité en parasitologie. *Semaine des Hôpit., Path., Biol.*, 1960, Vol. 8, N° 1-2, 47-49.
- SCHEIDEGGER J.J. — Immuno-électrophorèse. *Semaine des Hôpit. Paris*, 20 juin 1956, N° 37, 2.119-2.126.
- SCHEIDEGGER J.J. — Analyse immuno-électrophorétique des liquides biologiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1957, 39, Supplément N° 1, 45-63.
- SAVEL J. — Les phénomènes d'immunité dans les helminthiases. *Biol. Méd.*, 1957, 46, 289-323.
- VERDUN P. et MANDOUL H. — Précis de parasitologie humaine. 5^e édit., 1957, 206.
- WILSON M.W. et PRINGLE B.H. — Experimental studies of the agar plate precipitin test of Ouchterlony. *J. of Imm.*, 1954, 73, 232.
-

TABLE DES MATIERES

Introduction	13
Historique	15
<i>Chapitre I. — Généralités.</i>	17
— Cycle de l'Ascaris	17
— Notion de l'allergie ou de l'anaphylaxie	18
— Les manifestations cliniques	20
<i>Chapitre II. — Différentes méthodes du diagnostic immuno- logique de l'ascaridiose</i>	23
— Intradermo-réaction à l'antigène ascaridien	23
— La réaction d'agglutination des particules de collodion sensibilisées (Test de Cavelti)	26
— La réaction d'agglutination des particules de Bentonite sensibilisées (Test de Bozicevitch)	31
— La réaction de diffusion en milieu gélosé (Test d'Ouch- terlony)	34
— L'immuno-électrophorèse	38
— La réaction* d'hémagglutination	39
<i>Chapitre III. — La valeur diagnostique des différentes réac- tions immunologiques</i>	43
Conclusions	45
Bibliographie	47
